

China).

Abstract Apoptosis is a common mode of cell death occurring during development as well as in many pathological conditions, such as in tumor, aged and degenerative diseases. However, some experimental results recently demonstrate that free radicals involve in apoptosis. In apoptosis cells, the reactive oxygen species (ROS) production increases and the ability to metabolize ROS declines. The ROS in most disabled apoptosis cells is lower and the mortality of this kind of cells can be

changed according to the amount of ROS in cells. Irradiation can result in apoptosis damaged by hydroxyl free radical, the apoptosis phenomena in some cells come from withdrawing growth factor and medium may be caused by change of the free radical metabolic enzyme activity, such as peroxide hydrogen enzyme. The research summarized collectively suggest that free radical plays an important role in regulation of apoptosis.

Key words apoptosis, free radical, gene, tumor

TATA box 结合蛋白-DNA 复合物的三维结构

黄雯 王春新

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘要 TATA box 结合蛋白质 (TBP) 是 RNA 聚合酶 II 转录因子 TFIIID 的组成成分, 它可与 DNA 序列上游区的 TATA box 元件特异地结合. 对 TBP 及 TATA box-TBP 复合物的三维结构进行扼要的介, 探讨其在起始转录过程中所起的作用.

关键词 TBP, TATA box, 三维结构, 转录调控

普遍性转录因子 TFIIID 是参与真核生物聚合酶 II 转录起始的唯一具有位点特异性的普遍性转录因子. 它由 TATA box 结合蛋白 (TBP) 和多个 TBP 联系因子 (TAFs) 组成^[1], 其中 TBP 直接与 TATA 元件结合并可直接与 TFIIA、TFIIB 相互作用. TBP 的三维结构呈高度二重对称性. 两个拓扑学构象等同的结构域 (88~89 个氨基酸) 各由 5 股反向平行的 β 折叠 (S) 和 2 个 α 螺旋 (H) 组成^[2], 形成一个 $3.2 \text{ nm} \times 4.5 \text{ nm} \times 6 \text{ nm}$ 的“分子鞍”的结构. β 折叠构成“分子鞍”的底面, 与 DNA 相互作用; α 螺旋构成“分子鞍”的凸面, 与转录过程中其他蛋白因子相互作用. S_2 和 S_3 , S_2' 和 S_3' 之间的 β 链象“分子鞍”的两个“脚蹬” (stirrup) (图 1)^[2], 其上各有一对苯丙氨酸, 与结合 DNA 有关^[3].

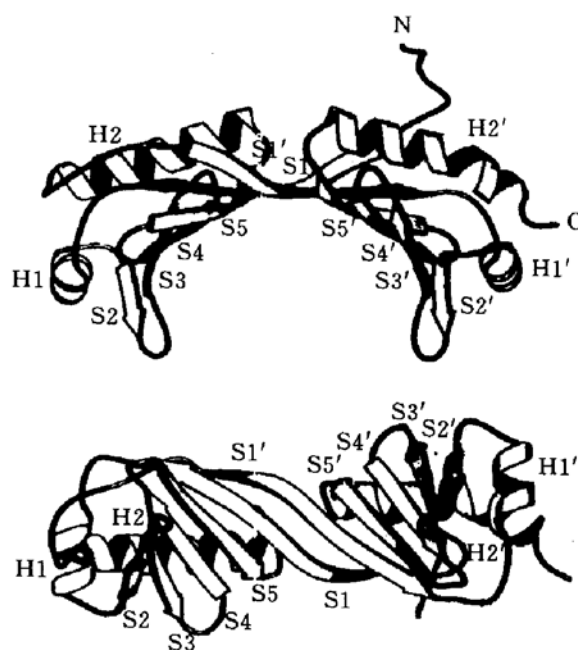


图 1 TBP 的三维结构^[2]

收稿日期: 1994-12-26, 修回日期: 1995-07-12

最近, 两个研究小组分别用大肠杆菌表达的酵母^[4]和拟南芥菜^[5]重组 TBP 与 29 nt 和 14 bp 的 TATA box 元件重结晶形成复合物, 并对该复合物的共晶结构进行 X 光衍射分析, 描绘出其晶体模型^[6]. 在复合物中, TBP 好象跨在 DNA 元件上, 彼此的接触面大约有 30 nm². TBP 的两个拓扑学等同的结构域并不受 DNA 结合的影响, 与未结合 DNA 前相比, 两者只相对扭转了 10°, 两个“脚蹬”环相对位置仅出现一点位移. 然而在 TBP “分子鞍”底面的 TATA 元件, 其双螺旋结构却剧烈地变形. 5' 端 3 个碱基对、3' 端的 5 个碱基对大体仍维持 B 型, 但中间的 6 个碱基对 (ATAAAA) 部分解旋, 有点似 A 型结构. DNA 双螺旋的小沟明显加宽变平, 与 TBP 的凹面形成一个疏水界面, 使得 TBP 与 TATA box 具有高度的亲和力. 两者的结合引起该处的 DNA 弯曲成 80° 角, 而 TATA box 的 8 对碱基 (TATAt/aAAa/g) 则解旋了 110°. 与 TBP 凹面结合的这 8 对碱基的转动都对 DNA 的弯曲起作用, 5' 端 T 和 A、3' 端 A 和 a/g 之间的转动最大, 形成纽结 (kink). TBP 两端“脚蹬”上的苯丙氨酸侧链楔入这两对碱基之间, 使它们分开, 引起该处 DNA 的部分解旋, 于是形成一种平滑的弯曲, 使小沟面对 TBP 的 β 折叠. 在 TBP 与小沟的结合过程中, 存在三种相互作用: a. 在 8 个碱基两端, 两对苯丙氨酸侧链插入时的 π - π 相互作用; b. 4 个极性氨基酸 Asn₂₇, Asn₁₁₇, Thr₈₂ 和 Thr₁₇₃ 与相应 4 个碱基对之间形成的氢键; c. TBP 凹面上 15 个残基与 DNA 上 8 对碱基之间产生的范德华力使蛋白质和 DNA 的结合变得十分稳固. 值得注意的是, 所有参与与 DNA 接触的残基在已知的 TBP 序列中都是保守的, 突变研究证明“分子鞍”底面和边沿即 S_{3'} 的 Ile₁₅₂→Phe 和 S_{4'} 的 Leu₁₆₃→Val 会影响 DNA 结合特异性. 这可以说明为何 TBP 以序列特异的方式结合到 DNA 上. 另外, 该研究还表明, TBP 与 TATA box 的结合具有一定的方向性, 一般是 TBP 羧基端的亚结构域与 TATA box 的 5' 端序列 (即不变

序列 TATA) 结合, TBP 氨基端的亚结构域则与 TATA box 的 3' 端序列 (即可变序列) 结合. 造成这种极性的原因在于 TBP 与 DNA 结合形成的界面中范德华力具有不对称性, 而且 DNA 的变性也具有不对称性.

根据上述模型, TBP 与 TATA box 结合引起该处的 DNA 构象发生改变而初步解旋, 为转录起始位点的进一步解旋以及最终产生单链模板做准备; 另外, TBP 与 TATA box 结合之后, 其构象更适合于其他转录因子及 RNA 聚合酶 II 的结合; 最后, 两者的结合引起 DNA 一定程度上的弯曲, 使分别位于 TATA box 两侧的调控区与转录起始位点相互靠近, 便于激活转录.

在迄今研究的转录调控因子与 DNA 的相互作用中发现, 序列特异的蛋白质与 DNA 识别时, 大多数蛋白质是依靠侧链/大沟接触结合到 DNA 上^[7], 而 TBP 是依靠侧链/小沟相互作用实现识别的第一个例子, 这预示着侧链/小沟相互作用可能是蛋白质与 DNA 识别的另一种模式.

参 考 文 献

- 1 Hoffmann A, Sinn E, Yamamoto T *et al.* Nature, 1990; **346**: 387
- 2 Nikolov D B, Hu S H, Lin J *et al.* Nature, 1992; **360**: 40
- 3 Horikoshi M, Bertuccioli C, Takada R *et al.* Proc Natl Acad Sci USA, 1992; **89**: 1060
- 4 Kim Y, Geiger J H, Hahn S *et al.* Nature, 1993; **365**: 512
- 5 Kim J L, Nikolov D B, Burley S K. Nature, 1993; **365**: 520
- 6 Klug A. Nature, 1993; **365**: 486
- 7 Stephen C H, Aggarwal A K. Annu Rev Biochem, 1990; **59**: 933

Three-Dimensional Structure of TBP/TATA-box Complex. Huang Wen, Wang Chunxin (Biotechnology Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China).

Abstract TATA box binding protein (TBP), a component of RNA polymerase II transcriptional factor TFIID, binds to TATA box

specifically. The co-crystal structure of TBP/TATA-box complex is introduced and its role in the initiation of transcription is discussed.

Key words TBP, TATA box, co-crystal structure, transcription

固氮酶中的电子传递*

黄静伟 张鸿图 万惠霖 蔡启瑞

(厦门大学化学系, 固体表面物理化学国家重点实验室, 厦门 361005)

摘要 提出改进的二步 ATP 驱动的电子传递机理, 对还原剂和 MgATP 都充足或其中有一种不充足的情况下固氮酶体系的 EPR 信号变化作了合理的解释.

关键词 固氮酶, ATP 驱动, EPR 信号, 电子传递

固氮酶是由 MoFe 蛋白 ($\alpha_2\beta_2$ 四聚体, 分子量约为 230 ku) 和 Fe 蛋白 (γ_2 二聚体, 分子量约为 65 ku) 两个组分构成. 随着 N_2 和其他外源底物络合到 MoFe 蛋白的活性中心, 电子从还原剂经由 Fe 蛋白传递到 MoFe 蛋白上, 再由 MoFe 蛋白传递给底物, 耦合着质子的传递, 底物得到不同程度的还原. 有关这一电子传递过程的研究一直是固氮酶研究的一个中心内容. 本文提出改进的二步 ATP 驱动的电子传递机理, 对还原剂 ($S_2O_4^{2-}$) 和 MgATP 都充足或其中有一种不充足情况下固氮酶体系的 EPR 信号变化进行尝试性解释.

1 改进机理的提出

在 Hardy 等^[1]证明生物固氮必须有 ATP 参加之后, Walker 和 Mortenson^[2]在稀固氮菌——巴氏芽胞梭菌 (*Clostridium pasteurianum*, Cp) 酶溶液中观察到当还原剂 ($S_2O_4^{2-}$) 和 MgATP 都充足时, 少量的 Fe 蛋白能还原分子数量大得多的 MoFe 蛋白, 使得 85% 的 MoFe 蛋白处在没有 EPR 信号的深度还原态, 大部分 Fe 蛋白处于有 EPR 信号的还原态, 大大降低了酶促活性. 然而 Smith 和 Lowe^[3]却在肺炎克氏杆菌 (*Klebsiella pneumoniae*, Kp) $Kp1:Kp2=1:1$ 的较浓固氮酶溶液中观察到稳态酶周转时, 90% $Kp1$ 处于无 EPR 信号的还

原态, 而 70% 的 $Kp2$ 是没有 EPR 信号的氧化态. 为了很好地说明这些实验现象, Cai 等^[4]根据配位化学和络合催化作用原理, 提出了二步 ATP 驱动电子传递的固氮酶催化反应机理. 最近, Rees 等^[5]成功地解析了 MoFe 蛋白和 Fe 蛋白单晶 X 射线衍射所得到的电子密度图, 得到 MoFe 蛋白和 Fe 蛋白的三维空间结构, 指出 N_2 和其他外源底物是络合在固氮酶中的 M-簇合物 (蛋白键合的 FeMo-cofactor). M-簇合物是由 MoS_3Fe_3 和 FeS_3Fe_3 这二个缺口的类立方烷型簇合物通过三个非蛋白配体 (二个硫和一个比硫轻的“Y”) 桥联而成. 由于 M-簇合物是深埋在 MoFe 蛋白里, 电子是由 Fe 蛋白先传递给处在 MoFe 蛋白表层的 P-簇合物 (P-簇合物是由两个 Fe_4S_4 簇合物通过二个半胱氨酸的巯基配体桥联而成), 再传递给 M-簇合物. MgATP 可以络合到 Fe 蛋白或 MoFe 蛋白上^[6], 但单独的 Fe 蛋白或 MoFe 蛋白并不会使 MgATP 发生水解, 只有当络合着 MgATP 的 Fe 蛋白与 MoFe 蛋白结合产生碱性基团时才能催化 MgATP 的水解^[7]. 动力学研究^[8]表明: ATP 水解发生在 Fe 蛋白-MoFe 蛋白之间的电子传递之前. 虽然 ATP 在 Fe 蛋白上的具体键合位目前还未证实, 但已知 ATP

* 国家基础性研究重大关键项目 (攀登计划) 资助课题.

收稿日期: 1994-12-20, 修回日期: 1995-09-04